

Aus dem Max-Planck-Institut für Hirnforschung Gießen,
Neuropathologische Abteilung (Prof. Dr. J. HALLERVORDEN).

**Histochemische Untersuchungen an primären Lipoidosen:
Amaurotische Idiotie, Gargoylismus, Niemann-Picksche
Krankheit, Gauchersche Krankheit, mit besonderer
Berücksichtigung des Zentralnervensystems*.**

Von

PAUL BERND DIEZEL.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Juni 1954.)

Einleitend sollen unter Berücksichtigung unserer Kenntnisse von der chemischen Natur der Speicherstoffe die Eigentümlichkeiten der einzelnen Speicherungskrankheiten dargestellt werden. Die hier behandelten Speicherstoffe sind Zwischenprodukte des intermediären Stoffwechsels (Fettstoffwechsel), die offenbar infolge einer „Enzymopathie“ (KLENK) nicht weiter um- oder abgebaut werden können, sie sind Ausdruck einer „cellulären Stoffwechselstörung“ (LETTERER).

Die *Amaurotische Idiotie* (Am. Id.)¹ ist gekennzeichnet durch Ablagerungen von Lipoiden in den Ganglien- und Gliazellen des ZNS (Abb. 1 und 2). Darüber hinaus wird häufig das nervöse Parenchym der Peripherie befallen, während Lipoidspeicherungen auch geringen Ausmaßes in Leber, Milz, Lymphknoten, Knochenmark, Lunge und Nieren relativ selten sind. KLENK (1—5) hat bei der chemisch-analytischen Aufarbeitung einiger Fälle von *infantiler* Am. Id. ein neuartiges Lipoid, „Gangliosid“, gefunden, das im Verhältnis zum Normalgehirn erheblich vermehrt vorlag und von ihm als *die* Speichersubstanz bei infantiler Am. Id. angesprochen wurde. Bei den Gangliosiden handelt es sich um einen neuraminsäurehaltigen Glykolipoidkomplex, der im chemischen Aufbau nahe Verwandtschaft mit den Cerebrosiden und Sphingomyelinen (s. Formel) erkennen läßt. Ganglioside verschiedener Konstitution wurden inzwischen von KLENK und Mitarbeitern auch in anderen Geweben nachgewiesen (Rindermilz, Stroma der Erythrocyten von Mensch, Rind, Pferd).

Eine der Am. Id. nahestehende Lipoidspeicherkrankheit mit Ablagerungen von Gangliosiden in den Ganglienzellen haben wir in dem

* Die Untersuchung wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

¹ Während die Am. Id. bisher nur bei Menschen beobachtet worden ist, hat HAGEN kürzlich eine ähnliche Lipoidstoffwechselstörung der Nervenzellen bei 2 Hunden beschrieben.

Gargoylismus (Synonyma: Dysostosis multiplex PFAUNDLER-HURLER, Lipochoondrodystrophie) vor uns. Unter Hinweis auf die zusammen-

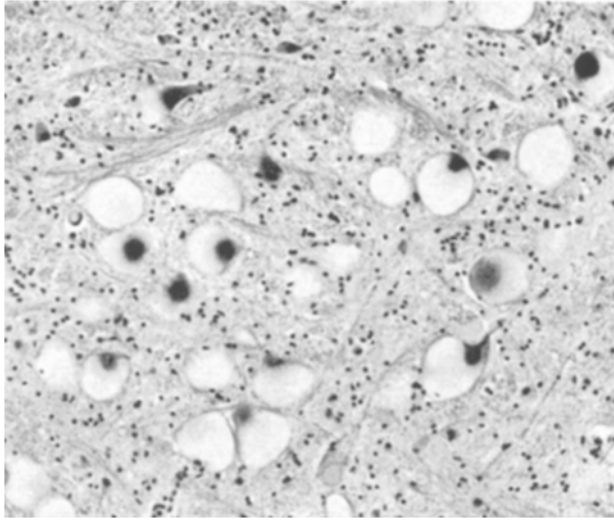


Abb. 1. Infantile Amaurotische Idiotie. Speichernde Ganglienzellen des Nucleus dentatus. Paraffinschnitt, H.-E., 120mal. Bei H.-E. — ebenso wie Kresylviolett färbung — erscheinen nach Paraffineinbettung die Ganglienzellen „leer“, die Ganglioside sind durch den Einbettungsprozeß in Lösung gegangen, die verbliebenen Sphingomyeline nehmen die Farbe nur schwer an.

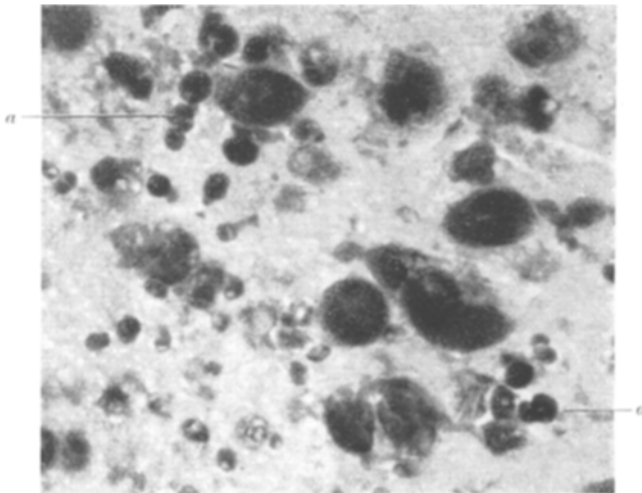


Abb. 2. Infantile Amaurotische Idiotie. Speichernde Ganglien- und Gliazellen der Großhirnrinde. Gefrierschnitt, PAS (wäßrig), 250mal. Die Ganglioside in den geblähten Ganglienzellen sind rot gefärbt (im Bild schwarz). a Mit Speicherstoffen beladene Mikroglia meist in Nähe stark geblähter und untergehender Ganglienzellen.

fassende Darstellung des Gargoylismus bei HALLERVORDEN, Handbuch der inneren Medizin, Bd. V/3, 1953, sollen nur Mitteilungen der letzten

Zeit Erwähnung finden. Über neue eingehend untersuchte Fälle berichten HENDERSON und Mitarbeiter; NAIDOO; NISBET und CUPIT sowie DAWSON. Die beiden Fälle von COLE und Mitarbeitern zeichnen sich durch Veränderungen in der Subcutis aus, während bei dem von MAGEE beschriebenen 2 $\frac{1}{2}$ -jährigen Jungen der Prozeß besonders an den weichen Häuten lokalisiert ist. Die hochgradig verdickte Leptomeninx enthält reichlich lipoidspeichernde Makrophagen. Zwei Erwachsenenfälle werden von SMITH und Mitarbeitern mitgeteilt.

In einem Fall von Gargoylismus konnte KLENK die vierfache Menge des normalen Gehaltes an Gangliosiden im Gehirn feststellen. Auch BRANTE fand in 2 Fällen von PFAUNDLER-HURLERScher Krankheit Gangliosidablagerungen im Gehirn. Diese chemischen Befunde unterstützen die Übereinstimmung der morphologisch sichtbaren Speichervorgänge am ZNS mit denen bei der Am.Id. Auch in dem von uns bearbeiteten Fall konnten wir, wie bereits mitgeteilt (Dtsch. Z. Nervenheilk. 1954), mittels histochemischer Methoden in den Ganglienzellen relativ große Mengen eines Glykolipoids nachweisen, das mit den Gangliosiden bei Am.Id. übereinstimmt.

Für den Gargoylismus ist neben der Gangliosidspeicherung in den Nervenzellen die krankhafte Ablagerung von noch nicht näher identifizierten Mucopolysacchariden (Chondroitin- oder Mucoitinschwefelsäure? BRANTE) charakteristisch. Die bei unserem Fall beschriebenen breiten „gelatinösen“ perivaskulären Abscheidungen und enorm verdickten weichen Häute enthalten ohne Zweifel reichlich Mucopolysaccharide, wie mittels der PAS-Reaktion gezeigt werden konnte. Diese Stoffe sind nicht sudanophil und zum Teil wasserlöslich. Der Zelleib, der um das 2—3fache vergrößerten und geblähten Bindegewebszellen in den Gefäßwänden (Adventitialzellen) und in den perivaskulären Räumen, sowie in der verdickten Leptomeninx erscheint nach Formalinfixierung leer. Unter Hinweis auf BRANTE möchten wir annehmen, daß hier wasserlösliche Mucopolysaccharide eingelagert waren (Abb. 3 und 4).

Schon TUTHILL, die das Gehirn des HURLERSchen Falles bei SPIELMEYER untersucht hat, beschreibt verdickte Adventitialsäume um die Hirngefäße. In den vergrößerten Adventitialzellen waren im alkoholfixierten Gewebsmaterial intracellulär gelegene, mit Thionin blau anfärbbare Substanzen zu erkennen, die nach Formalinfixierung fehlten. Diese Stoffe wurden mit einer gleichzeitig bestehenden Tuberkulose in Verbindung gebracht und als Proteinsubstanzen gedeutet. Die Wucherung der Adventitia soll eine Reaktion auf diese „blauen Granula“ gewesen sein. Wenn auch diese Vermutungen nicht richtig sind, so besteht kein Zweifel, daß schon bei der ersten Gehirnuntersuchung eines Gargoylismus (1934) die heute als Mucopolysaccharide erkannten Substanzablagerungen gesehen worden sind. In letzter Zeit haben NAIDOO, HENDERSON und Mitarbeiter sowie NISBET und CUPIT auf die Gefäßveränderungen beim

Gargoylismus hingewiesen. NAIDOO sieht in der „adventitial hypertrophy“ eine Reaktion des Mesenchyms auf abbaufähige Lipoide aus den anliegenden Markscheiden. Es sei betont, daß wir die beschriebenen peri-

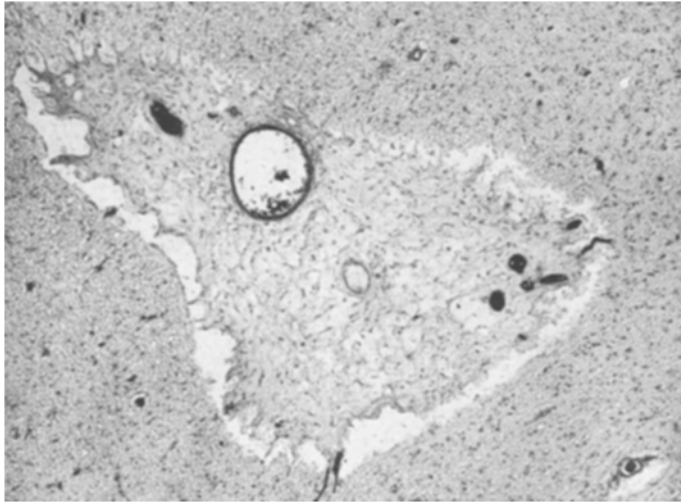


Abb. 3. Gargoylismus. „Gelatinöse“ perivasculäre Abscheidungen um die Gehirngefäße. Paraffinschnitt, Kresylviolett, 60mal.

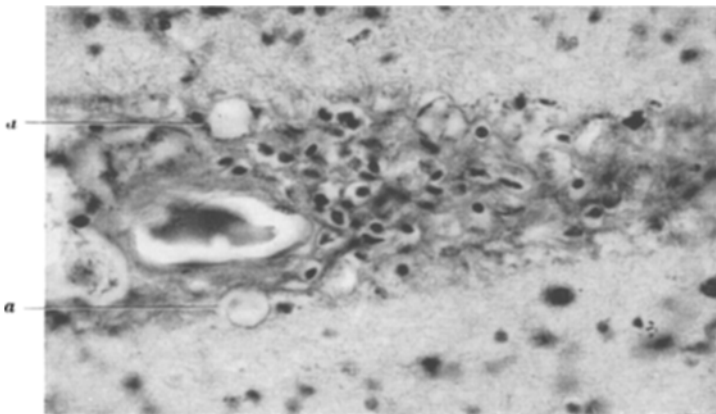


Abb. 4. Gargoylismus. Paraffinschnitt, Kresylviolett, 430mal. Perivasculäre Abscheidungen um ein kleines Hirngefäß. Die Adventitialzellen sind vermehrt, ihr Zelleib ist gebläht und abgerundet. Vereinzelt werden bläschenförmige Auftreibungen beobachtet (a). Nachdem die hier gespeicherten Mucopolysaccharide in Lösung gegangen sind, erscheinen die vergrößerten Zellplasmarräume leer.

vasculären Abscheidungen ebenso wie die Verdickungen der Leptomeninx den Veränderungen an den Herzklappen und am Skeletsystem an die Seite stellen: Es gelangen an den genannten Stellen Mucopolysaccharide

zur Ablagerung, die an den verschiedenen Orten (Herzklappen, Skeletsystem, Bindegewebe in den parenchymatösen Organen) verschiedenartige Schädigungen herbeiführen. Durch diese Stoffwechselstörung der Binde- und Stützgewebszellen ist der Gargoylismus geradezu charakterisiert und von der Am.Id. zu unterscheiden. Der Lipoidabbau im Bereich der größeren perivaskulären Saumbildungen im Gehirn ist in unserem Fall wahrscheinlich durch sekundäre Schädigungen angrenzender Nervenfasern bedingt; dafür spricht die teils leichtere, teils stärkere Entmarkung im perivaskulären Bereich¹.

Die Veränderungen am Stütz- und Bindegewebe zeigen noch eine Besonderheit, die unseres Erachtens aus dem Rahmen der bisher bekannten Veränderungen bei den Speicherungskrankheiten herausfällt und von allgemein-pathologischem Interesse ist. Der *zell dystrophische Prozeß* führt hier nicht nur zu *intracellulären Stoffablagerungen*, wie sie zum Wesen der Speicherungskrankheiten gehören, sondern es erfolgt darüber hinaus eine *Vermehrung der Intercellularsubstanzen*, die gelegentlich von einer Hyperplasie der Adventitialzellen begleitet sein kann. Wenn man bedenkt, daß die Intercellularsubstanzen in enger Beziehung zu den Bindegewebszellen stehen und wahrscheinlich von ihnen gebildet werden, dann nimmt es nicht wunder, im Bereich des Stütz- und Bindegewebes auch *extracelluläre* Veränderungen als Folge der *cellulären* Stoffwechselstörung anzutreffen. Wie wir wissen, sind die Mucopolysaccharide bedeutungsvolle Bausteine der mesenchymalen Zwischensubstanzen. Diese Zusammenhänge führen unmittelbar zu der von uns gegebenen Darstellung: Die intra- und extracellulären Veränderungen am Stütz- und Bindegewebe sind Ausdruck einer Störung im Stoffwechselgeschehen der Mucopolysaccharide. BRANTE geht so weit, den Gargoylismus schlechthin als „Mucopolysaccharidose“ zu bezeichnen, was in bezug auf das Stütz- und Bindegewebe zutreffend ist, aber für die Befunde an den Nervenzellen nicht gelten kann.

Die von ULLRICH und WIEDEMANN in zwei aspektmäßig schwach ausgeprägten Fällen der HURLERSchen Erkrankung festgestellte ALDERSche Granulationsanomalie der Leukocyten reiht sich hier gut ein, nimmt man doch an, daß diese Granula² ebenfalls aus einem Mucopolysaccharid

¹ Der nur kurze Bericht MAGEES über histochemisches Verhalten der lipoiden Substanzen innerhalb meningealer Makrophagen erlaubt leider kein Urteil über Natur oder Herkunft dieser Fettstoffe.

² Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von BAGH und HORTLING sowie RAYNER, die bei juveniler Am.Id. vacuolisierte Lymphocyten gefunden haben. Es ist bisher nicht geklärt, welche Stoffe diese Vacuolen enthalten. Literaturangaben über abnorme Granulationen der Blutzellen beim Gargoylismus siehe bei ULLRICH und WIEDEMANN sowie ZELLWEGER und Mitarbeiter. Letztere haben große Granula in Reticulumzellen des Knochenmarks, Lymphocyten und Leukocyten beschrieben.

(Hyaluronsäure) aufgebaut sind (LAVES). Ganglioside und Mucopolysaccharide enthalten als gemeinsamen Baustein ein Hexosamin, das man gleichsam als Bindeglied zwischen den Speichersubstanzen auffassen kann (s. Formeln). Liegt der cellulären Dystrophie eine Störung im Fermentsystem zugrunde, so ist es ohne weiteres verständlich, daß die einzelnen Zellarten einen *untereinander vergleichbaren, aber für den spezifischen Zellstoffwechsel charakteristischen Speicherstoff produzieren*. Dieser Zusammenhang läßt sich beim Gargoylismus an den einzelnen erkrankten Gewebsarten (Nervensystem, Stützgewebe, Blut) besonders anschaulich demonstrieren.

Die NIEMANN-PICKsche Krankheit zeichnet sich durch eine Sphingomyelinspeicherung aus. Die Verwandtschaft zur Am.Id. kommt schon in der Strukturformel der Speichersubstanzen zum Ausdruck. Die in die Gruppe der Phosphatide gehörenden Sphingomyeline enthalten wie die Ganglioside an Stelle des Glycerin bei den Glycerin-Phosphatiden (Lecithin, Colamin-Kephalin, Serin-Kephalin und Acetalphosphatide) einen zweiwertigen Aminoalkohol, das Sphingosin. Während bei den Cerebrosiden und den Gangliosiden sich an die beiden Hydroxylgruppen des Sphingosins ein Zuckerrest anfügt, ist bei den Sphingomyelinen das Sphingosin mit Cholin-Phosphorsäure verestert (RENNKAMP).

Darüber hinaus bestehen im pathologisch-anatomischen Befund weitgehende Parallelen zur Am.Id., die so weit führen, daß die Veränderungen am ZNS bei beiden Erkrankungen gleichartig sein können. Als führendes differentialdiagnostisches Zeichen werden Lipoidspeicherungen in Milz und Leber angegeben (in der Leber nehmen außer den Zellen des reticulo-histioeytären Systems auch die Parenchymzellen am Speicherprozeß teil). Diese Speicherungen bewirken in vielen Fällen erhebliche Organvergrößerungen. Die formale Ähnlichkeit dieser beiden Speicherkrankheiten hatte zunächst dazu geführt, die Am.Id. als eine auf das ZNS beschränkte Unterform der NIEMANN-PICKschen Erkrankung anzusehen (BIELSCHOWSKY, PICK, SPIELMEYER). Mit dem Nachweis der Ganglioside bei der infantilen Am.Id. durch KLENK (1—5) wurden jedoch die beiden Erkrankungen wieder stärker voneinander getrennt. Wir werden auf die Beziehungen dieser beiden Krankheiten auf Grund unserer histochemischen Befunde weiter unten erneut eingehen.

Bei der GAUCHERSchen Erkrankung werden Cerebroside gespeichert. Diese Stoffe kommen in erster Linie in den reticulo-histioeytären (r.-h.) Zellen in Leber, Milz, Lymphknoten und Knochenmark zur Ablagerung. Darüber hinaus können in anderen Organen (Lungen, Thymus, Nebennieren) Speicherzellen angetroffen werden. Für die gelegentlich auftretenden zentralnervösen Symptome werden von einzelnen Untersuchern verschiedenartige zum Teil unspezifische Veränderungen verantwortlich gemacht (vgl. zusammenfassende Darstellung bei PETERS).

Zum Unterschied von den Sphingomyelinen enthalten die Cerebroside an Stelle des Cholinphosphorsäurerestes einen Zuckerrest (Galaktose oder Glucose, danach auch Cerebrogalaktoside (Kerasin) und Cerebroglucoside genannt). Als Fettsäurerest ist meist die Lignocerinsäure amidartig an das Sphingosin geknüpft, es werden aber auch niedere homologe Fettsäuren angetroffen [KLENK (2)]. Beim Morbus Gaucher speichern die r.-h. Zellen in erster Linie Cerebroglucoside [KLENK (2), KLENK und RENNKAMP (1), MONTREUIL und Mitarbeiter], während sich am Aufbau der Markscheiden die Cerebroside als Cerebrogalaktoside beteiligen. Da normalerweise in der Milz die Cerebrogalaktoside überwiegen [Galaktose : Glucose = 3,16 (MONTREUIL und Mitarbeiter)] liegt die Vermutung nahe, die Zunahme der Cerebroglucoside als Charakteristicum der Stoffwechselstörung beim Morbus Gaucher aufzufassen.

Bei vergleichender Betrachtung der wiedergegebenen Strukturformeln bestehen auffallende Beziehungen der einzelnen Stoffe untereinander: Sphingomyeline, Cerebroside und Ganglioside enthalten als gemeinsamen Baustein Sphingosin und eine höhere Fettsäure, Cerebroside und Ganglioside außerdem eine Hexose. Die Ganglioside ihrerseits enthalten mehrere Hexosemoleküle, sie rücken damit in die Nähe der Polysaccharide. Wie die Mucopolysaccharide enthalten sie außerdem eine Amino-hexose, diese kennzeichnet die innere Verwandtschaft zu den im Stützgewebe abgelagerten Speicherstoffen beim Gargoylismus.

Material.

Die unserer Untersuchung zugrunde liegenden Beobachtungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Zu 7 Fällen von Am.Id. kommen ein Gargoylismus, eine NIEMANN-PICKSche Erkrankung und 1 Fall von Morbus Gaucher. Die Fälle von Am.Id. und der Gargoylismus waren bereits Gegenstand unserer Arbeit über den Gangliosidgehalt bei Am.Id. Bei der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung handelt es sich um den Fall SMETANA, den uns freundlicherweise Herr Prof. CHIARI und Herr Dr. SEITELBERGER, Wien, überlassen haben. Wir sind sehr froh, gerade diesen Fall zum Vergleich zur Hand zu haben, handelt es sich doch hier um eine sehr gründlich untersuchte Beobachtung, auf die sich auch FEYRTER in seiner Arbeit über die Beziehungen zwischen TAY-SACHScher und NIEMANN-PICKScher Erkrankung stützt. Unsere histochemischen Untersuchungen haben wir auf die GAUCHERSche Erkrankung ausgedehnt, um eine Gegenüberstellung der einzelnen Speicherstoffe (Ganglioside, Sphingomyeline, Cerebroside) auf histochemischer Basis durchführen zu können.

Unsere Studie baut sich auf den Ergebnissen einer kürzlich mitgeteilten Untersuchung an Am.Id. auf (s. oben). Es seien daher zunächst diese Ergebnisse kurz mitgeteilt.

Tabelle 1.

Lfd. Nr.	Name, Alter, Geschlecht, E.-Nr.	Krankheitsdauer	Diagnose	Einsender	Ort der bereits erfolgten Publikation	Anmerkungen
1	♀, 4½ J., 53.21	2 Jahre	Infantile Am. Id.	Prof. Krücke, Frankfurt	Diss. FISCHER, Frankfurt 1954	5 Geschwister gesund
2	♂, 18 Mon., 49.47	10 Monate	Inf. Am. Id.	Sammlung Prof. HALLERVORDEN, von Prof. ULLRICH, Bonn, 1949 frdl. überl.		Von Prof. KLENK chem. untersucht: stark erhöhter Neuraminsäuregehalt
3	H. M., ♂, 3 J., 53.90	unbekannt	Inf. Am. Id.	Prof. Dr. H. JACOB, Hamburg		Krankengeschichte nicht bekannt
4	E. F., ♀, 9 J., 53.65	7 Jahre	Spät-inf. Am. Id.	Dr. SETTELBERGER, Wien		
5	R. P. M., ♂, 6 J., 53.62	3 Jahre	Spät-inf. Am. Id.	Doz. Dr. ORTHNER, Göttingen	Doz. Dr. HADDENBROCK, Arch. Psychiatr. u. Z. Neur. 185, 129 (1950)	Myoklonus Ep. mit Myoklonuskörperchen
6	W. B., ♂, 5 J., 53.63	1 Jahr	Spät-inf. Am. Id.	Doz. Dr. ORTHNER, Göttingen	Soll von Doz. Dr. HADDENBROCK noch publiziert werden	Myoklonus Ep. mit Myoklonuskörperchen
7	M.-L.M., ♀, 19 J., 53.91	10 Jahre	Juv. Am. Id.	Prof. Dr. H. JACOB, Hamburg		
8	H. H., ♂, 7 J., 10 Mon., 53.92	4 Jahre	(Spät-inf. Am. Id.) Gargoylismus	Prof. Dr. H. JACOB, Hamburg	Diss. J. KNABE, Hamburg 1946/47 u. BONHOFF in Dtsch. Z. Nervenheilk. 168, 447 (1952)	Gleichzeitig chondrodystroph. Störungen an d. Extremitäten u. Schädelknochen, „narbige“ Veränderungen an allen Herzklappen
9	♀, 1 J. 8 Mon., 54.2	1½ Jahre	Niemann-Pick	Prof. H. CHIARI, Wien	SMETANA, H., Virchows Arch. 274, 697 (1930)	Milz, 700 g; Speicherzellen in Milz und Leber. Speicherung in den Adventitiazellen der Hirngefäße?
10	M. F., ♂, 61 J., 53.37	Milzvergrößerung seit Jugend	Gaucher	Prof. E. SCHAIRER, Ulm		

An 7 Fällen von Am.Id. (3 infantile, 3 spätinfantile, 1 juvenile Form) sowie einem Fall von Gargoylismus konnten wir mit histochemischen Untersuchungen zeigen, daß in *allen* Fällen die speichernden Ganglien- und Gliazellen ein Lipoidgemisch enthalten, dem eine *zuckerhaltige* Komponente beigegeben ist. Dieses Glykolipoid stimmt mit dem von KLENK (1—5) auf chemisch-analytischem Weg isolierten Gangliosid überein. Weiterhin gelang es, die lipoidspeichernden Zellen mittels der Methode der Zellen und Gewebetrennung nach M. BEHRENS zu isolieren und diese auf ihren Neuraminsäuregehalt zu prüfen. Durch unsere Untersuchungen wurde *erstmal*s das Gangliosid auch in den speichernden Ganglienzellen bei *spätinfantiler und juveniler Am. Id. nachgewiesen*. In unseren Fällen nimmt mit steigendem Alter das Ausmaß des Speicherprozesses ab und auch die Glykolipoidkomponente tritt innerhalb der Speichersubstanzen zurück. Auf Grund dieser Befunde sehen wir in den einzelnen Unterformen der Am.Id. (infantile: BIELSCHOWSKY; juvenile: SPIELMEYER, und adulte Form: KUFs, HALLERVORDEN) lediglich *altersbedingte Varietäten der gleichen Erkrankung*. Diese von uns kürzlich vertretene Auffassung wird durch die neuen Untersuchungen von CUMINGS an zwei adulten Fällen (23 und 28jährig) unterstrichen. Mit der von KLENK und LANGERBEINS angegebenen Orcinreaktion konnte CUMINGS in Rinde und Stammganglien einen Anstieg des Neuraminsäuregehaltes gegenüber normalen Gehirnen nachweisen¹. Wir möchten diesen Sachverhalt besonders hervorheben, war doch nach dem Bekanntwerden der KLENKschen Befunde, die nur bei der infantilen Form von einem erhöhten Gangliosidwert sprachen, die Frage nach dem Wesen der späteren Erkrankungsformen laut geworden und unter Berufung auf Unterschiede im klinischen Bild eine Abtrennung der einzelnen Formen nahegelegt worden. Die Unterschiede in der klinischen Symptomatologie sind, wie die genaue Untersuchung der Fälle zeigt, durch Unterschiede im Ausmaß und der Lokalisation der Zellstoffwechselstörung bedingt.

Während mittels histochemischer Methoden kleine Mengen der Ganglioside noch zu erfassen sind und in den erkrankten Zellen lokalisiert werden können, ist es uns bei Kenntnis der Quantität des Speichervorgangs bei den späteren Erkrankungsformen ohne weiteres verständlich, daß KLENK (5) mittels eines chemisch-analytischen Untersuchungsgangs nur eine geringfügige Vermehrung der Ganglioside feststellen konnte. Dieser Befund konnte von KLENK nicht als Ausdruck eines Speichervorgangs gewertet werden. Hier liegt eine Schwierigkeit für die Beurteilung chemisch-analytischer Untersuchungsbefunde bei den Speicherkrankheiten, zumal durch die besonderen Verhältnisse am Gehirn (Lipoidreichtum) die Situation noch kompliziert wird. Auch wenn Hirnrinde

¹ Der Neuraminsäurewert wird von KLENK (5) als Gradmesser für den Gangliosidgehalt angegeben.

und Stammganglien sowie Mark getrennt untersucht werden, so lassen sich die einzelnen Regionen trotz sorgfältiger Präparation nicht so exakt voneinander abtrennen, daß nicht die abgetrennte Rinde oder die isolierten Stammganglien noch markhaltige Fasern enthalten, die durch ihre andersartige Lipoidzusammensetzung allzu leicht das sich vielleicht nur in der Dezimale ändernde quantitativ analytische Ergebnis beeinflussen können. Je nach Ausmaß des Speichervorgangs wird man bei der chemisch-analytischen Untersuchung quantitativ sehr unterschiedliche Werte erhalten, aus denen unter Umständen nur sehr schwer auf das Vorliegen einer Speichersubstanz geschlossen werden kann. In diesem Zusammenhang möchten wir nochmals auf die Arbeit von CUMINGS verweisen. Dieser fand einen erhöhten Cerebrosidgehalt in der Rinde seiner 5 Fälle von Am.Id. Die Werte liegen bei dem formalinfixierten Material nur wenig über der Norm (Cerebrosidgehalt der normalen Großhirnrinde 1,42; bei der Am.Id. 1,83; 1,62; 1,39; 1,95). Berücksichtigt man, daß CUMINGS für das cerebrosidreiche Mark des Normalgehirns 5,5¹ angibt, so ist unseres Erachtens aus diesen Zahlen der Schluß auf eine Erhöhung des Cerebrosidgehaltes in der Rinde bei Am.Id. und eine Beteiligung des Cerebrosids am Speicherprozeß nicht zwingend². Nach den Untersuchungen von KLENK (5) ist nicht anzunehmen, daß Cerebroside bei der Am.Id. in den Ganglienzellen gespeichert werden. Bei KLENK (1, 2, 4, 5) waren die Cerebrosidwerte mehrfach erniedrigt.

Wie unsere Extraktionsversuche mit Fettlösungsmitteln (Äthylalkohol, Chloroform, Äther, Aceton, Petroläther, Pyridin) ergeben haben, werden in den Ganglienzellen bei Am.Id. nicht nur Ganglioside gespeichert³. In *allen* Fällen bleibt ein sehr schwer extrahierbares Lipoid in Form feiner Tröpfchen zurück. Darin kommt zum Ausdruck, daß weder die Am.Id. noch der Gargoylismus als Gangliosidspeicherkrankheit kat'exochen bezeichnet werden kann, wie dies für die infantile Am.Id. angenommen wurde. Mittels der in der folgenden Zusammenstellung aufgezählten Reaktionen wird einmal das Verhalten der nach Extraktion

¹ Die Werte verstehen sich als g/100 g Organgewicht.

² Ein weiterer Einwand ergibt sich aus dem von CUMINGS beschrittenen Weg zur Bestimmung der Cerebroside. Er schließt auf das Vorliegen von Cerebrosiden, indem er den Zuckergehalt der gewonnenen Lipoidfraktion bestimmt. Dabei werden aber in gleicher Weise die Hexosebausteine der Ganglioside erfaßt. Die erhöhten Werte können somit durch die in der Rinde vermehrt abgelagerten Ganglioside bedingt sein.

³ Die Ganglioside lösen sich bei unseren infantilen Formen nach kurzer Pyridinbehandlung (15–30 min) oder durch den Prozeß der Paraffineinbettung völlig aus den Ganglienzellen. Bei den Fällen von spätinfantiler und juveniler Am.Id. sowie dem Gargoylismus gehen sie jedoch schwerer und zum Teil erst nach mehrstündiger Behandlung mit Pyridin in Lösung. Die erschwerte Löslichkeit bei den späteren Erkrankungsformen der Am.Id. sowie dem Gargoylismus beruht offenbar auf einer Bindung der Ganglioside an Eiweißkörper (s. unten).

der Ganglioside verbliebenen Lipoide bei Am.Id. und Gargoylismus geprüft. Im weiteren werden die Speichersubstanzen bei NIEMANN-PICK- und GAUCHERScher Erkrankung mit den gleichen Methoden untersucht.

Methoden.

1. *Darstellung der Lipoide mit Sudan-Schwarz B* (LISON).

1a. *Darstellung der Lipoide mit Sudan III.*

2. *Perameisensäure-Leukofuchsin-Reaktion.* Einzelheiten s. zusammenfassende Darstellung histochemischer Reaktionen bei PEARSE, GEDIGK.

3. *Darstellung der Polysaccharide mit Periodsäure-Leukofuchsin-Technik*¹ (wäßrig und alkoholig) (PAS-Reaktion nach McMANUS, LILLIE und HOTCHKISS); s. zusammenfassende Darstellung histochemischer Reaktionen bei PEARSE, GEDIGK².

4. *Acetylierungstest* nach McMANUS und CASON. Einzelheiten s. zusammenfassende Darstellung histochemischer Reaktionen bei PEARSE, GEDIGK.

4a. *Abwandlung des Acetylierungstestes für pyridin-lösliche Glykolipoide* (DIEZEL).

Das Essigsäureanhydrid wird mit pulverisiertem wasserfreien Natriumacetat versetzt. Die Acetylierung tritt nach 75—90 min bei 35—40° C ein.

5. *Bromierungstest* (LILLIE). Einzelheiten s. zusammenfassende Darstellung histochemischer Reaktionen bei PEARSE, GEDIGK.

Wir stimmen mit GEDIGK überein, daß mit dieser Reaktion in der Hauptsache Äthylenverbindungen erfaßt werden und darüber hinaus in geringem Maße auch α -Glykole zu schiffpositiven Aldehyden oxydiert werden können. Um diese Nebenreaktion zu vermeiden, haben wir dem Vorschlag GEDIGKS folgend gleichfalls eine Acetylierung (vgl. Abschnitt 3 bzw. 3a) vorgeschaltet.

6. *Nachweis von Kohlenhydratverbindungen im Schnitt mit α -Naphthol.*

Die unter Nr. 6—8 angegebenen Proben beruhen darauf, daß aus Pentosen und Hexuronsäuren bei Einwirkung starker Säuren Substanzen von Aldehydcharakter (meist Abkömmlinge des Furfurols) entstehen, die charakteristische Farbreaktionen liefern.

Die von MOLISCH angegebene für Kohlenhydrate typische Reaktionen mit α -Naphthol haben wir für die Untersuchung am Schnittpräparat etwas abgewandelt. Glucosamin reagiert nicht.

Aufgezogene Gefrier- oder Paraffinschnitte werden mit 2—3 Tropfen folgender Lösung benetzt:

5%ige α -Naphthollösung in 96%igem Alkohol	0,5 cm ³ ,
2 n H ₂ SO ₄	10,0 cm ³ .

Der Schnitt wird in den Brutschrank gelegt. Nach 2—5 min tritt bei 90—100° C die Reaktion ein.

Um einen guten Benetzungseffekt zu erzielen wird empfohlen, der α -Naphthol-Schwefelsäurelösung einen Tropfen eines der modernen Benetzungsmittel (z. B. Wasa) zuzugeben. Das gleiche gilt auch für die unter Nr. 5 und 6 angegebenen Reaktionen.

Wir haben keine konzentrierte Schwefelsäure benutzt, weil der Schnitt durch die konzentrierte Säure leicht zerstört wird. Die 2 n-Schwefelsäure erreicht im Brutschrank infolge Wasserabdunstung sehr bald die erforderliche Konzentration, bei der die Reaktion eintritt.

¹ Die Bezeichnung „Leukofuchsin“ ist irreführend. Die für die Farbreaktion benutzte fuchsin-schweflige Säure (SCHIFFSches Reagens) ist keine Leukoverbindung.

² Wir haben in letzter Zeit das Reduktionsbad weggelassen (vgl. LILLIE in „Connective tissues“, S. 26) und der wäßrigen Methode den Vorzug gegeben.

Ergebnis: Hexoseverbindungen geben eine rot-violette Färbung (z. B. Cerebroside in der Markscheide, Cerebroside in den Speicherzellen beim Gaucher, Ganglioside in den Speicherzellen der amaurotischen Idiotie und Gargoylismus).

Die Farbtöne wechseln nach kurzer Zeit über violett zu grau. Man soll daher die Schnitte nach Einschluß in ein Deckgläschen innerhalb 1 Std unter dem Mikroskop ansehen.

7. *Darstellung von Kohlenhydraten mit der Orcin-Schwefelsäurereaktion.*

Nach BRÜCKNER geben Pentosen und Hexosen im Reagensglas die Orcin-Schwefelsäurereaktion mit annähernd gleicher Intensität, jedoch mit etwas verschiedener Farbe. Wir haben diese Reaktion am Schnittpräparat ausgeführt und empfehlen folgende von uns erprobte Technik:

Aufgezogene Gefrier- oder Paraffinschnitte werden mit 2—3 Tropfen folgender Lösung benetzt:

2%ige wäßrige Orcinlösung 1 cm³,
2 n H₂SO₄ 10 cm³.

Der Schnitt wird in den Brutschrank gelegt, nach 2—5 min tritt bei 90—100° C die Reaktion ein.

Ergebnis: Die Cerebroside und Ganglioside geben eine rote bis blaurote Farbe. Mucopolysaccharide reagieren nicht.

8. *Darstellung von Pentosen im Schnittpräparat.*

Wie BRÜCKNER und später ROE und RICE angegeben haben, reagieren bei der Orcinreaktion nicht nur Pentosen, sondern auch Hexosen. ROE und RICE haben eine Methode auf Pentosen ausgearbeitet, bei der andersartige Kohlenhydrate nur ganz geringgradig stören. Auch diese Reaktion läßt sich am Schnittpräparat ausführen. Wir empfehlen folgende von uns erprobte Technik:

100 cm³ Eisessig werden mit Thioharnstoff gesättigt, wozu etwa 4 g benötigt werden. Die Lösung wird vom Bodenkörper dekantiert und 2 g reines p-Bromanilin darin aufgelöst (in dunkler Flasche 1 Woche haltbar).

Der Schnitt wird in den Brutschrank gelegt. Nach 2—5 min tritt bei 70—85° C die Farbreaktion ein.

Ergebnis: Pentosen in Pflanzenkeimen färben sich rot, Cerebroside und Ganglioside bleiben farblos.

9. *Prüfung der Metachromasie mit Thiazinfarbstoffen (Thionin).*

10. *Einschlußfärbung nach FEYTER.*

11. *Prüfung der Eisenbindung des Gewebes mit dialysiertem Eisen (HALE).* Ausgeführt nach den Angaben von McMANUS, LUPTON und GRAHAM:

- a) Gefrier- und Paraffinschnitte.
- b) 10 min Behandlung mit einer Lösung aus gleichen Teilen einer Lösung von colloidalem, dialysiertem Eisen und molarer Essigsäure (6%).
- c) Gut waschen mit Aqua dest.
- d) Berliner-Blau-Reaktion.
- e) Waschen in Aqua dest.
- f) Wäßrige PAS-Technik.

12. *Messung der Basophilie*, s. zusammenfassende Darstellung bei PEARSE, GEDIGK.

13. *Nilblau-Reaktion zur Darstellung der Phosphorlipide (Lecithine, Kepheline)* nach MENSCHIK.

14. *Phosphorlipoidreaktionen* nach OKAMOTO, SHIMAMOTO, UEDA, KUSUMOTO und SHIBATA (zit. bei UEDA).

- a) Formalinfixierung. Dünne Gefrierschnitte. Wir haben auch an paraffineingebettetem Material gute Ergebnisse erzielt.
- b) 48 Std bei Zimmertemperatur in folgende Lösung: zu je 15 cm³ Aceton werden 0,1 g Magnesiumchlorid gegeben.

- c) In Aqua dest. sorgfältig spülen.
- d) 24 Std im Eisschrank in folgende Lösung: zu je 10 cm³ einer gesättigten Lösung von Quecksilber-(2)-Nitrat in 60%igem Alkohol werden 0,2 cm³ einer 0,2%igen Natriumchloridlösung gegeben.
- e) In Aqua dest. sorgfältig spülen.
- f) 4—5 min in 5%ige Sol. Kalii jodati. In dieser Lösung werden die Schnitte erst gelb bis rötlich-gelb, verlieren aber nach kurzer Zeit diese Farbe wieder.
- g) 10 min wässern in Aqua dest.
- h) 10 min 2%ige Natrium-Acetatlösung.
- i) 10 min in eine gesättigte Lösung von Diphenylcarbazon in 96%igem Alkohol.
- j) In Aqua dest. sorgfältig spülen.
- k) Einschuß in Glycerin-Gelatine.

Ergebnis: Die Phosphorlipide und Cerebroside sind blau-violett gefärbt.

(Fortsetzung der „Methoden“ auf Seite 105.)

Tabelle 2. *Histochemisches Verhalten der einzelnen Speicherungskrankheiten.*
A. Amaurotische Idiotie.

Histochemische Reaktion	Ganglienzellen		Gliazellen	
	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt
1	grau-schwarz	grau-schwarz	grau-schwarz	grau-schwarz
1a	blaß-orange	0	blaß-orange	0
2	ganz schwach,	ganz schwach,	ganz schwach,	ganz schwach,
	rosa	rosa	rosa	rosa
3	rot	0 ¹	rot	blaßrot
4 u. 4a	reversibel	0	reversibel	reversibel
	acetylierbar		acetylierbar	acetylierbar
5	+ ²	0	+	+
6	rot-violett	0	rot-violett	blaßrot-violett
7	rot-violett	0	rot-violett	blaßrot-violett
8	0	0	0	0
9	metachromat.rot	0	metachrom.rot	schwach metachrom. rot
10	metachrom. rot	0	metachrom. rot	ganz schwach metachrom. rot
11	negativ	0	schwache Eisenbindung	0
12	bei p _H 1,2 noch Blaufärbung	p _H 6,9—7,3	p _H 1,2	p _H 1,2
13	0	0	0	0
14	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14a	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14b	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14c	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
15	einzelne hellrote Granula ³	0	rot	rot
16	0	0	0	0
17	0	0	hellblau	hellblau

¹ Nur an wenigen Stellen bei juveniler Amaurotischer Idiotie blaßrot.

² Durch Bromierung für die Oxydation nicht blockiert.

³ Bei den spätinfantilen und juvenilen Fällen Zunahme der Rotfärbung.

Tabelle 2. (Fortsetzung.)

B. Gargoylismus.

Histochemische Reaktion	Ganglienzellen		Histochemische Reaktion	Ganglienzellen	
	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt		Gefrierschnitt	Paraffinschnitt
1	schwarz	schwarz	9	metachrom. ¹	0
1a	blaßorange	0		rot	
2	ganz schwach	ganz schwach	10	metachrom. rot	0
	rosa	rosa	11	negativ	negativ
3	rot	blaßrot	12	pH 1,2—1,4	0
4 u. 4a	reversibel	reversibel	13	0	0
	acetylierbar	acetylierbar	14	blau-violett	blau-violett
5	+	+	14a	blau-violett	blau-violett
6	rot-violett	blaßrot-violett	14b	blau-violett	blau-violett
		violett	14c	blau-violett	blau-violett
7	rot-violett	blaßrot-violett	14c	blau-violett	blau-violett
		violett	15	rot	0
8	0	0	16	0	0
			17	0	0

¹ Das Protoplasma ist diffus metachromatisch angefärbt, während die feinen Lipoidgranula, die sich histochemisch wie Sphingomyeline verhalten, die Farbe nicht angenommen haben.

C. NIEMANN-PICKsche Krankheit.

Histochemische Reaktion	Ganglienzellen		Gliazellen	
	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt
1	grau	grau	grau-schwarz	grau-schwarz
1a	blaßorange	0	blaßorange	0
2	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach
	rosa	rosa	rosa	rosa
3	rot	0	rot	0
4 u. 4a	reversibel	0	reversibel	0
	acetylierbar		acetylierbar	
5	+	0	+	0
6	rot-violett	0	rot-violett	0
7	rot-violett	0	rot-violett	0
8	0	0	0	0
9	metachrom. rot	0	metachrom. rot	0
10	metachrom. rot	0	metachrom. rot	0
11	negativ	0	schwache Eisenbindung	0
12	pH 1,2	pH 6,9—7,3	pH 1,2	pH 6,9—7,3
13	0	0	0	0
14	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14a	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14b	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
14c	blauviolett	blauviolett	blauviolett	blauviolett
15	0	0	rot	blaßrot
16	0	0	0	0
17	0	0	hellblau	hellblau

Tabelle 2. (Fortsetzung.)
C. NIEMANN-PICKSche Krankheit.

Histo- chemische Reaktion	Leberparenchymzellen		KUPFFERSche Sternzellen		Milz ² r.-h. Zel Paraffinschni
	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt	
1	grau-schwarz	grau-schwarz	grau-schwarz	grau-schwarz	grau-schwarz
1a	blaßorange	0	blaßorange	0	blaßorange
2	ganz schwach	ganz schwach	ganz schwach	0	ganz schwach
3	rosa	rosa	rosa	negativ	rosa
4 u. 4a	blaßrot ¹	0	rot		rot
	reversibel	0	reversibel		reversibel
	acetylierbar ¹		acetylierbar	0	acetylierbar
5	+ ¹	0	+	0	+
6	0	0	rot-violett	0	rot-violett
7	0	0	rot-violett	0	rot-violett
8	0	0	0	0	0
9	metachrom. rot ¹	0	metachrom. rot	0	0
10	metachrom. rot ¹	0	metachrom. rot	0	0
11	+ ¹	0	negativ	0	schwache Eisenbindung
12	pH 1,4 ¹	pH 6,9—7,3	pH 1,2—1,4	0	pH 5,3—5,
13	0	0	0	0	0
14	blauviolett	blauviolett	blauviolett	0	blauviolett
14a	blauviolett	blauviolett	0	0	schwach
14b	blauviolett	blauviolett	0	0	blauviolett
14c	blauviolett	blauviolett	0	0	schwach
15	0	0	0	0	blauviolett
16	0	0	0	0	blaßrot
17	0	0	0	0	0
					hellblau

¹ Die Reaktion betrifft lediglich das Protoplasma der Parenchymzellen, während die eingelagerten granulären Speicherstoffe (Sphingomyeline) nicht reagieren.

² Die Speicherzellen der Milz enthalten außer den sich wie Sphingomyeline verhaltenden Granula einen homogenen wachsartigen Speicherstoff vom Charakter der Cerebroside.

D. GAUCHERSche Krankheit.

Histo- chemi- sche Reak- tion	Speichernde reticulohistiocytaire Zellen der Milz		Histo- chemi- sche Reak- tion	Speichernde reticulohistiocytaire Zellen der Milz	
	Gefrierschnitt	Paraffinschnitt		Gefrierschnitt	Paraffinschnitt
1	dunkelgrau	dunkelgrau	10	leicht meta- chrom. rot	0
1a	blaßorange	0	11	schwache Eisenbindung	schwache Eisenbindung
2	rot	rot	12	pH 1,4—1,6	pH 5,4—5,6
3 u. 3a	reversibel	reversibel	13	0	0
	acetylierbar	acetylierbar	14	blauviolett	blauviolett
4	+	+	14a	0	0
5	schwach rosa	schwach rosa	14b	0	0
6	rot-violett	rot-violett	14c	0	0
7	rot-violett	rot-violett	15	blaßrot	blaßrot
8	0	0	16	0	0
9	leicht meta- chrom. rot	0	17	hellblau	hellblau

14a. *Trennung der Phosphorlipide von den Cerebrosiden:*

- a) Schnitte in Aqua dest. spülen.
- b) 48 Std im Eisschrank in Pyridin.
- c) Schnitte behandeln nach Punkt b—k, wie in Abschnitt 14 angegeben.

Es werden nur noch die Phosphorlipide angefärbt.

14b. *Eine weitere Reaktion zur Trennung der Phosphorlipide von den Cerebrosiden:*

- a) Formalinfixierung, Gefrierschnitte oder Paraffinschnitte.
- b) Schnitte in Aceton abspülen, um das Wasser zu entfernen.
- c) 2 Tage bei Zimmertemperatur in Äther.
- d) Den Äther sorgfältig mit Aceton aus dem Schnitt entfernen.
- e) Behandlung der Schnitte nach Punkt b—k, wie in Abschnitt 14 angegeben.

Ergebnis: Nur die Sphingomyeline werden positiv dargestellt.

14c. *Eine weitere Reaktion zur Trennung der Phosphorlipide von den Cerebrosiden:*

- a) Behandlung der Schnitte nach Punkt a—d, wie in Abschnitt 14 angegeben.
- b) Entfernung des Wassers durch Spülen in Aceton.
- c) Schnitte für 2 Tage in Äther.
- d) Nach sorgfältigem Spülen in Aqua dest. werden die Schnitte nach Punkt e—k, wie in Abschnitt 14 angegeben, behandelt.

Ergebnis: Sphingomyelin und Lecithin sind blau-violett gefärbt.

15. *Gekoppelte Tetrazoniumreaktion* zum Nachweis von Tyrosin, Tryptophan und Histidin (DANIELLI). Technik s. zusammenfassende Darstellung bei PEARSE.

16. *Benzoylierung der aromatischen Aminosäuren* (PEARSE). Ein positiver Ausfall der Tetrazoniumreaktion nach Benzoylierung soll einen gewissen Polymerisationsgrad der Proteine anzeigen. Wir behandelten die Schnitte jeweils 16 bis 20 Std mit Benzoylchlorid.

17. *Färbung mit Alcianblau* (PEARSE, LISON). Es kommen selektiv epitheliale und mesenchymale saure Mucopolysaccharide zur Darstellung. Wir haben nach den Angaben von LISON Gefrier- und Paraffinschnitte mit einer 0,5%igen Alcianblaulösung in 0,5%iger Essigsäure 30 min gefärbt. Spülen in dest. Wasser, dann 10 min 1%ige Phosphormolybdänsäure, Spülen in dest. Wasser. Als Gegenfärbung sind Chlorantin-licht-rot oder die PAS-Reaktion geeignet. Man legt die Schnitte 10—15 min in eine wäßrige 0,5%ige Chlorantin-licht-rotlösung und deckt nach Entwässerung in Balsam ein. Die Alcianblaufärbung erlaubt somit eine Differenzierung innerhalb der PAS-positiven Substanzen. Wir erzielten ausgezeichnete Ergebnisse und können bestätigen, daß offenbar nur saure Mucopolysaccharide gefärbt werden. Saure Glykolipoide (Ganglioside, Schwefelsäureester der Cerebroside in den Markscheiden) nehmen das Alcianblau nicht an.

Diskussion.

Wie eingangs betont, werden in allen Fällen von Am. Id. sowie in dem Fall von Gargoylismus unter den Speicherstoffen in den Ganglienzellen reichlich Ganglioside gefunden. Diese Ganglioside sind im Schnitt infolge ihrer Hexosebausteine leicht zu erfassen. Ihr weit im sauren p_H -Bereich liegender relativer isoelektrischer Punkt ermöglicht eine Abtrennung von den nicht als Schwefelsäureester vorliegenden Cerebrosiden. Sind die Ganglioside aus den Ganglienzellen mittels Alkohol relativ leicht löslich, dann ergibt sich hieraus eine weitere Möglichkeit der Abgrenzung gegen die Cerebroside. Dies trifft für unsere Fälle von infantiler

Am.Id. zu. Schon nach kurzer Behandlung (15—30 min) mit 70%igem Alkohol oder Pyridin (bei Zimmertemperatur) gingen die Ganglioside in Lösung. Bei den spätinfantilen und juvenilen Formen mußte Alkohol oder Pyridin mehrere Stunden einwirken. Im Vergleich mit dem Ausfall der gekoppelten Tetrazoniumreaktion bei den genannten Fällen wird diese mit erschwerter Löslichkeit der Ganglioside zunehmend positiv. Offenbar hängt die Löslichkeit der Ganglioside von dem Grad ihrer Bindung an Eiweißkörper ab. Auch in dem von BROWN und Mitarbeitern mitgeteilten Fall waren die Glykolipoide schwerer löslich als in unseren Fällen von infantiler Am.Id. Eine histochemische Reaktion auf Eiweißkörper wurde nicht ausgeführt. Noch schwerer ging bei unserem Gargoylismus das in den Ganglienzellen gespeicherte Glykolipoid in Lösung. Heißes Methanol-Chloroformgemisch oder heißes Pyridin mußten bis zu 10 Std einwirken, um die PAS-positiven Stoffe herauszulösen. Das Glykolipoid zeigte nach der Tetrazoniumreaktion eine stark rote Farbe. Der Extraktionserfolg ließ sich am Ausfall der PAS-Reaktion und Tetrazoniumreaktion beurteilen. Es scheint somit beim Gargoylismus wie oben für manche Fälle von Am.Id. ausgeführt eine Bindung der Ganglioside an Eiweißkörper vorzuliegen, die als Ursache für die erschwerte Löslichkeit der Ganglioside anzusehen ist. Diese Befunde sprechen ebenso wie das Verhalten nach der Alcianblaufärbung (s. unten) gegen die Vermutung DAWSONS, der den Grund für die erschwerte Löslichkeit der Speicherstoffe in den Ganglienzellen in einer komplexen Verbindung zwischen einem Mucopolysaccharid und einem Cerebrosid oder Phosphatid erblickt.

Die von KLENK und LANGERBEINS beschriebene Orcinreaktion erlaubt einen Nachweis des Neuraminsäurebausteins in den Gangliosiden. Diese Probe wird an kleinen Gewebstückchen ausgeführt. Alle unsere Fälle von Am.Id. sowie der Gargoylismus gaben eine starke Orcinreaktion, die wir nach den Angaben von KLENK und LANGERBEINS ausführten. Bei der von uns angegebenen Orcinreaktion *am Schnitt* werden in erster Linie Hexosemoleküle erfaßt (vgl. BRÜCKNERS Untersuchungen über die Spezifität der Orcinreaktion. Die Probe eignet sich zum direkten Hexose- und Pentosenachweis im Schnitt).

Um welche Stoffe handelt es sich, die nach Extraktion der relativ leicht löslichen Ganglioside in den Ganglienzellen zurückbleiben? Im sudanschwarz-gefärbten Schnitt erkennt man grau bis grauschwarze feine Granula (Abb. 5). Diese sind PAS-negativ¹, geben leichte Rosafärbung bei der Perameisensäure-Leukofuchsin-Technik. Bei den von UEDA angegebenen Reaktionen auf Sphingomyeline verhalten sie sich wie diese. Sie zeigen bei den histochemischen Reaktionen Übereinstimmung mit

¹ Das von WOLMAN für die Sphingomyeline angegebene PAS-positive Verhalten können wir an unserem Material nicht bestätigen.

den Sphingomyelingu Granula unseres Falles von NIEMANN-PICKScher Erkrankung. Weiterhin besteht gleiches Verhalten gegen Fettlösungsmittel. Erst nach mehrstündiger Einwirkung von einem Gemisch aus Methylalkohol und Chloroform gehen sie in Lösung. Der relative isoelektrische Punkt liegt wie bei den Speicherstoffen des Niemann-Pick um p_H 7¹. Mit dem Sicherheitsgrad, mit dem aus dem Ausfall histochemischer Reaktionen ein Rückschluß auf das Vorliegen von bestimmten Substanzen erlaubt ist, haben wir für alle unsere Fälle von Am. Id. sowie

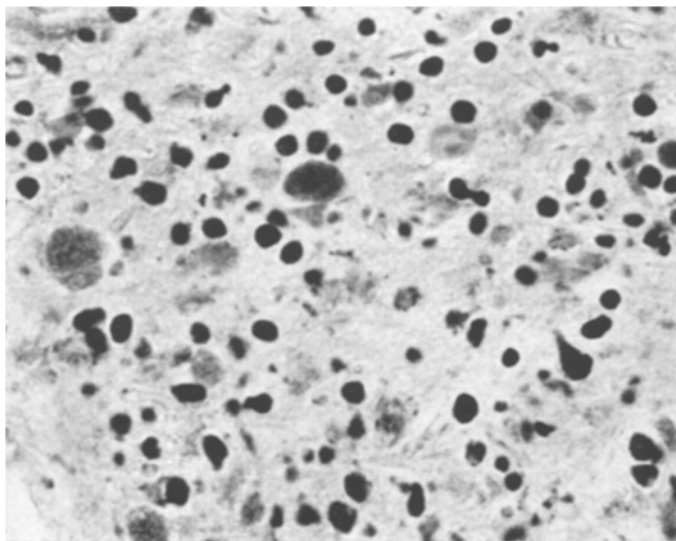


Abb. 5. Infantile Amaurotische Idiotie. Speichernde Ganglien- und Gliazellen der Großhirnrinde. Paraffinschnitt, Sudanschwarz, 250mal. Die Ganglioside sind durch den Prozeß der Einbettung in Lösung gegangen, während die gliogenen Körnchenzellen (Mikroglia) infolge eines komplexen Umbaus die Ganglioside noch enthalten und sich tief schwarz färben. Die in den Ganglienzellen in Form kleiner Granula verbliebenen Sphingomyeline nehmen den Farbstoff verschieden stark an, sie sind teils hellgrau teils dunkelgrau bis schwarz gefärbt.

den Gargoylismus nachgewiesen, daß *neben den Gangliosiden in den Ganglienzellen Sphingomyeline gespeichert werden*. Bemerkenswert sind die im Sudanschwarz-Präparat zwischen den einzelnen Granula bestehenden Unterschiede in der Farbintensität. Von Fall zu Fall werden bei der Am. Id. einmal mehr helle oder mehr dunkle Granula angetroffen, auch bei dem Niemann-Pick verhalten sich die Lipoidgranula in Gehirn, Leber², Milz und Lunge nicht gleichartig. Wie dieser Befund zu deuten

¹ Nach Formalinfixierung liegt der relative isoelektrische Punkt für Ganglioside bei p_H 1,2—1,4; für Schwefelsäureester der Cerebroside (Markscheiden) bei p_H 1,4 bis 1,6; für die in den r.-h. Zellen beim Gaucher gespeicherte Cerebroside bei p_H 5,3—5,6; für die Sphingomyeline bei p_H 6,9—7,3.

² Im Läppchenzentrum liegen vorwiegend blaßgraue und in der Läppchenperipherie grau-schwarze Granula.

ist, wissen wir nicht. Vielleicht liegen hier Unterschiede in den Sphingomyelinen vor. Es wäre denkbar, daß die Sphingomyeline sich durch verschiedene Fettsäurereste unterscheiden¹. In diesem Zusammenhang sei wiederum auf die chemisch-analytischen Untersuchungen von KLENK (1) verwiesen, in denen die chemischen Befunde bei NIEMANN-PICK-scher Erkrankung denen bei Am.Id. gegenübergestellt werden. Es wird ausdrücklich auf die erheblichen Schwierigkeiten bei der qualitativen Trennung der Gehirnlipide hingewiesen und verständlich gemacht, daß geringe Mengenunterschiede in den Sphingomyelinwerten nicht markant in Erscheinung treten können. Daraus geht hervor, daß auch hier eine geringe Steigerung des Sphingomyelingehaltes bei den untersuchten Fällen von Am.Id. nicht ausgeschlossen ist.

Mit dem Nachweis von Sphingomyelinen in den Speicherzellen bei Am.Id. rückt diese Erkrankung erneut in die Nähe des Niemann-Pick, wie dies schon früher BIELSCHOWSKY, PICK, SPIELMEYER u. a. ausgeführt hatten. SCHAFFER und später FEYRTER glaubten jedoch, daß zwei in ihrem Wesen verschiedene Erkrankungen vorliegen.

Auf die Untersuchungen von FEYRTER möchten wir hier kurz eingehen. Er stellt einen eigenen Fall von Am.Id. der von SMETANA publizierten NIEMANN-PICKschen Erkrankung gegenüber und stützt sich dabei vorwiegend auf die Befunde am Kleinhirn. Wir sind nun in der glücklichen Lage, gleichfalls den Fall SMETANA zum Vergleich heranziehen zu können. FEYRTER führt aus: „Schon die Veränderungen an den PURKINJESchen Ganglienzellen scheinen einander nicht völlig gleich zu sein. Bei der NIEMANN-PICKschen Krankheit finden sich ‚Schaumzellen‘, und die Zellen des Stratum granulosum erweisen sich frei von lipoidiger Einlagerung. Bei der Am.Id. finden sich Körnchenzellen, homogene Zellen, und die Zellen im Stratum granulosum enthalten reichlich tropfiges Lipoid.“ Bei den als „Schaumzellen“ und „Körnchenzellen“ beschriebenen Elementen handelt es sich in beiden Fällen um Mikrogliazellen. Wie wir kürzlich zeigen konnten, nehmen diese Zellen *nicht* primär am Speicherprozeß teil, sondern haben sekundär die aus den Ganglienzellen freigewordenen Stoffe aufgenommen, was auch in der Lokalisation der Gliazellen (unmittelbare Nähe zu den Ganglienzellen) zum Ausdruck kommt. Der Inhalt dieser Abraumzellen hängt also davon ab, was die Ganglienzellen zur Phagocytose freigeben. Bei der infantilen Am.Id. sind es vorwiegend Ganglioside und weniger reichlich Sphingomyeline, und bei der NIEMANN-PICKschen Erkrankung sind es reichlich

¹ KLENK (1) fand in der Leber eines Niemann-Pick-Falles ein Gemisch aus Lignocerin-, Nervo-, Stearo- und Palmito-Sphingomyelinen, im Gehirn des gleichen Falles dagegen nur ein Stearo-Sphingomyelin. In dem Fall von TROPP und ECKHARDT enthielten die Sphingomyeline des Gehirns gleichfalls ein Gemisch aus Palmitin, Lignocerin und Stearinsäure im Verhältnis 1:1,5:6.

Sphingomyeline und weniger Ganglioside. Die PAS-Färbung an Gefrierschnitten zeigt anschaulich, daß der „homogene“ Charakter der gliogenen Körnchenzellen vom Gangliosidgehalt herrührt. Auch die geringen Unterschiede im Verhalten der Ganglienzellen zwischen den beiden Erkrankungen im HE-Schnitt sind darauf zurückzuführen, daß lediglich quantitative Unterschiede im Gemisch der Speichersubstanzen zwischen beiden Krankheiten bestehen. Infolge des komplexeren und schwer extrahierbaren Einbaues der Ganglioside in die Mikrogliazellen können diese ihr „homogenes“ Aussehen im Gegensatz zu den Ganglienzellen auch noch im

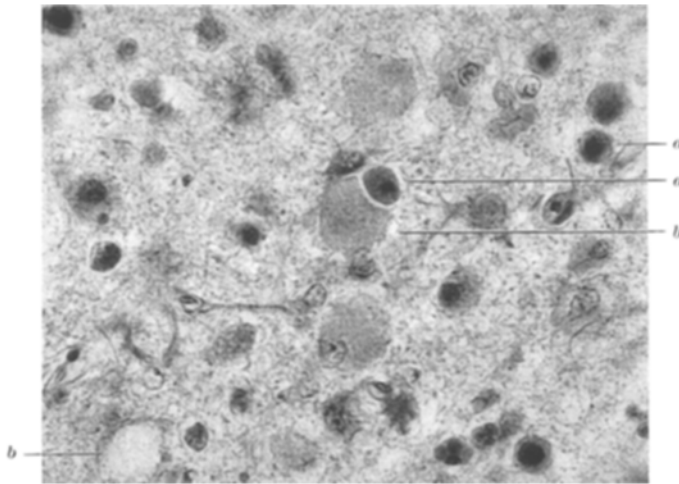


Abb. 6. Infantile Amaurotische Idiotie. Speichernde Ganglien- und Gliazellen der Großhirnrinde. Paraffinschnitt, gekoppelte Tetrazoniumreaktion, 330mal. Die sekundär von den gliogenen Körnchenzellen (a) aufgenommenen Speicherstoffe färben sich rot (im Bild schwarz). Die Speicherstoffe in den Ganglienzellen (b) geben keine bzw. eine ganz schwache Reaktion.

Paraffinschnitt behalten. Extrahiert man die Ganglioside aus den Gliazellen bei der infantilen Am.Id. mit Pyridin (mehrere Stunden), dann bleiben Lipoidgranula zurück, wie sie in den Schaumzellen beim Niemann-Pick angetroffen werden. Bei Resorption der aus den Ganglienzellen frei werdenden Stoffe erfolgt offenbar eine Bindung der Ganglioside an Eiweißsubstanzen. Dafür spricht der Ausfall der gekoppelten Tetrazoniumreaktion: Die gliogenen Körnchenzellen färben sich rot, während die Ganglienzellen mit ihren Speicherstoffen farblos bleiben (Abb. 6). Wahrscheinlich ist diese Eiweißbindung der Grund für das geänderte Verhalten der Ganglioside gegen Fettlösungsmittel.

Die Befunde am Kleinhirn können bei der infantilen Am.Id. sehr wechseln. In unserem Fall 3 fehlt jede Lipoidspeicherung in den Ganglienzellen der Kleinhirnrinde, bei Fall 1 speichern nur die Golgizellen (große Körnerzellen, „grandes cellules étoilées“ CAJALS), unser Fall 2

hingegen entspricht weitgehend dem Fall von infantiler Am. Id. FEYRTERS: Lipoidspeicherungen in den Purkinjezellen und den Golgizellen, reichlich Untermischung mit „Körnchenzellen“, die das Gewebsgefüge auflockern. Bei dieser Variationsbreite im Befall der Ganglienzellen der Kleinhirnrinde kann das Ausbleiben des Speicherprozesses an den großen Körnerzellen der Körnerschicht bei einem Fall von NIEMANN-PICKScher Erkrankung (Fall SMETANA) nicht als Argument für gestaltliche Unterschiede zwischen TAY-SACHSScher Am. Id. und NIEMANN-PICKScher Erkrankung herangezogen werden.

Wir haben nach eigener eingehender histologischer Untersuchung des Falles SMETANA (Großhirn, Leber, Milz, Lunge, Dünndarm) die Befunde am ZNS mit denen bei unseren Fällen von Am. Id. verglichen und kommen zu dem Schluß, daß die morphologischen Befunde am ZNS eine Differentialdiagnose zwischen den beiden Erkrankungen nicht erlauben. Die geringen Unterschiede zwischen den einzelnen Fällen liegen im Rahmen der üblichen Spielbreite des Speicherungsprozesses innerhalb des ZNS, der immer wieder regionale Intensitätsunterschiede erkennen läßt.

Die innere Verwandtschaft zwischen Am. Id. und NIEMANN-PICKScher Erkrankung kommt noch in einem weiteren auf histochemischem Weg erhobenen Befund zum Ausdruck: Die speichernden Ganglienzellen des Falles SMETANA enthalten neben der schwer löslichen Lipidkomponente ein leicht lösliches Glykolipoid, das sich histochemisch wie die Ganglioside bei Am. Id. verhält. Wenn auch im Vergleich zur infantilen Am. Id. quantitative Unterschiede in der Ablagerung dieses Glykolipoids bestehen, so ist doch kein Zweifel an dem Vorkommen desselben an sich und es ist deutlich gegenüber dem Gehalt in normalen Ganglienzellen vermehrt. Auch KLENK (1) hat in den Niemann-Pick-Gehirnen eine merkbare Anreicherung der Ganglioside gegenüber der Norm feststellen können. Erwähnt sei in diesem Zusammenhang die Arbeit von TERRY und Mitarbeitern. Bei einem adulten Fall von NIEMANN-PICKScher Erkrankung (52jähriger Mann) konnten in Leber, Milz und Lungen neben Sphingomyelin geringe Mengen eines Glykolipoids nachgewiesen werden¹.

Fassen wir das Ergebnis unserer histochemischen Untersuchungen an den Gehirnen der 7 Fälle von Am. Id., dem Fall von Gargoylismus und der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung zusammen:

1. *Die Speichersubstanzen in den lipoidspeichernden Ganglienzellen und Gliazellen enthalten bei Am. Id., Gargoylismus und NIEMANN-PICKScher Erkrankung Ganglioside und Sphingomyeline.*

¹ Interessant sind auch die Werte für das gespeicherte Sphingomyelin. Es kommen von diesem Stoff geringere Mengen zur Ablagerung als bei der infantilen Form der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung. Dieser Befund erinnert uns wieder an die Am. Id., deren Spätfälle durch einen Rückgang im Ausmaß des Speicherungsprozesses ausgezeichnet sind.

2. *Zwischen Am. Id. und NIEMANN-PICKScher Erkrankung bestehen Unterschiede im Mengenverhältnis der Speicherstoffe.* Bei der Am. Id. (besonders stark bei der infantilen Form) und dem Gargoylismus treten innerhalb des Gemisches der Speicherstoffe die Ganglioside in den Vordergrund, während bei der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung die Sphingomyeline überwiegen.

3. Auf Grund weitgehender Übereinstimmung in den morphologischen und chemischen Befunden möchten wir mit BIELSCHOWSKY, SPIELMEYER, PICK, LETTERER, SCHEIDEGGER u. a. die Am. Id. als eine der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung *wesensverwandte* Krankheit bezeichnen. *Die Am. Id. zeichnet sich lediglich durch einen bevorzugten Befall der Ganglienzellen aus.* Die Verwandtschaft zwischen beiden Erkrankungen wird im weiteren durch folgende Befunde unterstrichen¹: Gelegentlich werden auch bei der Am. Id. Lipoidspeicherungen in den Körperorganen gefunden, so daß man von Mischformen beider Erkrankungen gesprochen hat (vgl. zusammenfassendes Referat von PETERS). Auch in unserem Fall I (infantile Am. Id.) werden Lipoidspeicherungen geringen Ausmaßes in den Reticulumzellen der Milz und in den KUPFFERSchen Sternzellen der Leber beobachtet. Diese Befunde werden ausführlich von FISCHER, einem Schüler KRÜCKES, an anderer Stelle publiziert. Wir haben leider nur die Leber histochemisch untersuchen können und möchten hierüber kurz berichten. In den KUPFFERSchen Sternzellen finden sich tropfige Einlagerungen eines Glykolipoids, das ein mit den Gangliosiden des ZNS übereinstimmendes Verhalten zeigt. In der Milz geben die speichernden Reticulumzellen nach den Präparaten von FISCHER bei PAS-Reaktion und Feyrter-Einschlußfärbung Rotfärbung.

Der Befund an der Milz unseres Falles von NIEMANN-PICKScher Erkrankung bietet eine Überraschung. Die geblähten reticulo-histiocytären Zellen enthalten neben kleinen sudanophilen Lipoidgranula, die sich wie Sphingomyeline verhalten, ein *Glykolipoid*. Dieses entspricht histochemisch den Cerebrosiden, wie wir sie beim Gaucher finden. Die Speicherzellen der Milz haben daher auch jene merkwürdige „knitterige“ Beschaffenheit, wie sie für Gaucherzellen typisch ist. Leider konnten wir keine Gefrierschnitte untersuchen; die Milzschnitte entstammen dem einzigen noch vorhandenen in Paraffin eingebetteten Milzstück des Falles. Wir möchten auf diesen Befund besonders verweisen. Er

¹ Als Stütze für die Auffassung einer gleichartigen Stoffwechselstörung bei NIEMANN-PICKScher Krankheit und Am. Id. wird häufig die von VAN BOGAERT beschriebene Familie mit Fällen von TAY-SACHSScher Krankheit zitiert. Leider konnte der Fall mit Lebervergrößerung (Fall 2) nicht anatomisch untersucht werden. In diesem Zusammenhang sei auf die Beobachtung von DRIESSEN hingewiesen, der kürzlich in einer Familie das Vorkommen von NIEMANN-PICKScher Krankheit (8 Monate alter Junge, autoptisch verifiziert) und infantiler Am. Id. (8 Monate alte Schwester, nur klinischer Befund) beschrieben hat.

demonstriert, daß die reticulo-histiocytären Zellen der Milz einen für ihren spezifischen Stoffwechsel charakteristischen Speicherstoff produzieren. Auch die KUPFFERSchen Sternzellen enthalten größere und kleinere Tropfen eines Glykolipoids, das zum Teil alkohollöslich ist und daher am Gefrierschnitt besonders anschaulich demonstriert werden kann. Nach Paraffineinbettung scheinen diese Speichersubstanzen in den Sternzellen zum größeren Teil in Lösung gegangen zu sein. Ob es sich hier infolge der leichten Löslichkeit des Glykolipoids um Ganglioside handelt, kann nicht entschieden werden.

Aus diesen Ausführungen läßt sich folgendes ableiten: Die reticulo-histiocytären Zellelemente in Milz und Leber bilden offenbar im Gegensatz zu den Leberparenchymzellen als Speicherstoff nicht nur Sphingomyeline, sondern auch Glykolipide¹. Dieser Befund wirft Licht auf jene Fälle, bei denen auf Grund des Milzbefundes ein Gaucher angenommen wurde, im Gehirn aber morphologische Veränderungen wie bei Am.Id. bestanden haben (z. B. Fall BIRD)². Damit wird die alte Frage nach den Beziehungen zwischen NIEMANN-PICKScher und GAUCHERScher Erkrankung berührt. Wir möchten gestützt auf unsere Befunde daran festhalten, daß bei der GAUCHERSchen Erkrankung die Speicherzellen von den Zellen des reticulo-histiocytären System gestellt werden, während Parenchymzellen (Leberzellen, Ganglienzellen) zurückstehen oder höchstens unspezifische Veränderungen aufweisen. Beim Niemann-Pick oder der amaurotischen Idiotie dagegen ist die Beteiligung der Nervenzellen am Speicherprozeß leitendes Symptom. Der Nachweis eines Glykolipoids in Milz und Leber allein berechtigt demnach nicht zur Diagnose einer GAUCHERSchen Erkrankung, und die Vermutung von MORRISON und HACK, daß die Niemann-Pick-Milz PAS-negativ sei, besteht mindestens dann nicht zu Recht, wenn Cerebroside am Speicherprozeß teilnehmen [vgl. auch Befund an Milz und Leber bei unserem Fall von infantiler Am.Id. (Fall 1)]. KLENK (1) erhielt bei Bearbeitung eines Falles von NIEMANN-PICKScher Krankheit aus der Milz ein zuckerhaltiges Rohsphingomyelin; Kerasin ließ sich jedoch nicht isolieren.

Die histochemischen Befunde bei der GAUCHERSchen Erkrankung.

Wie schon MORRISON und HACK gezeigt haben, lassen sich die in den reticulo-histiocytären Zellelementen (in Milz, Leber, Knochenmark u. a.) gespeicherten Cerebroside wegen ihres Hexosebausteins mittels der

¹ KLENK und RENNKAMP (2) konnten aus normaler Rindermilz Ganglioside und 2 Cerebrosidfractionen mit unterschiedlichem Zuckergehalt isolieren.

² Die von WILDT bei einem Fall von Am.Id. für das Gehirn beschriebenen hohen Cerebrosidwerte sind ungewöhnlich und bedürfen erst einer Bestätigung.

Periodsäure-Leukofuchsin-Technik sehr schön darstellen. Wir können diese Befunde bestätigen.

Auch in unserem Fall waren die Cerebroside durch ein Methylalkohol-Chloroform-Gemisch oder andere Fettlösungsmittel wie Pyridin, Äther, Aceton nicht extrahierbar. In Übereinstimmung mit UZMAN sind auch wir der Meinung, daß der Speicherstoff in einer fest an Eiweiß gebundenen Verbindung vorliegt. Dafür spricht der Ausfall der gekoppelten Tetrazoniumreaktion, die Speicherzellen zeigen dabei eine blaßrote Farbe. Es wird hier offenbar die von UZMAN beschriebene Eiweißkomponente zur Darstellung gebracht. Darüber hinaus enthalten die Zellen sicher einen relativ leicht extrahierbaren Stoff, wie der Ausfall der Einschlußfärbung nach FEYRTER erkennen läßt. Es ist sehr gut möglich, daß die Unterschiede im Ausfall dieser Reaktion darauf beruhen, daß durch die Alkoholbehandlung ein relativ leicht lösliches Glykolipoid in Lösung geht. Wir konnten diesen Stoff nicht weiter erfassen und vor allen Dingen nicht ermitteln, ob es sich dabei um ein den Gangliosiden nahestehendes Stoffwechselprodukt handelt. Wenn man bedenkt, daß auch normalerweise in der Milz Cerebroside (WALZ) und Ganglioside¹ [KLENK und RENNKAMP, (2)] in geringen Mengen vorkommen, so ist an sich durchaus zu erwarten, daß beim Gaucher in der Milz außer den Cerebroside auch Ganglioside gespeichert werden. Enthalten die Speicherzellen bei der Am.Id., dem Gargoylismus und der NIEMANN-PICKSchen Erkrankung vom spezifischen Stoffwechsel des erkrankten Gewebes abhängige Substanzen, dann liegt es nahe, auch für den Gaucher ähnliche Verhältnisse anzunehmen. Ein leicht löslicher Glykolipoidkomplex wurde in neuerer Zeit von UZMAN bei 4 Fällen von GAUCHERScher Erkrankung festgestellt. Der als „Polycerebrosid“ bezeichnete Stoff hat offenbar enge Beziehungen zu dem von FOLCH beschriebenen „Strandin“, das sich bei Nachuntersuchung durch DAUN aus dem KLENKschen Institut als ein verunreinigtes Gangliosid entpuppte. Obwohl die von UZMAN mitgeteilten Befunde noch einer Bestätigung bedürfen, sprechen sie, wie auch der Ausfall der histochemischen Reaktionen dafür, daß beim Gaucher ein Lipoidgemisch mit einer leicht löslichen Komponente abgelagert wird.

Histochemische Untersuchungen an 6 Fällen von GAUCHERScher Erkrankung wurden in letzter Zeit von UEDA mitgeteilt². Die dem reticulo-histiocytären System zuzurechnenden Gaucherzellen wurden außer in Milz und Leber zum Teil in Tonsillen, Darm, Lunge, Nebennieren und

¹ Als Ausgangsmaterial dienten 50 kg Rindermilz.

² Verfasser benutzte vorwiegend histochemische Reaktionen, die von OKOMOTO und seinen Schülern vor einigen Jahren ausgearbeitet wurden. Neben Reaktionen auf ungesättigte Fettsäuren und ihre Salze, Cholesterine, wurden die unter Nr. 14 bis 14c wiedergegebenen Methoden, sowie eine Probe auf kohlenhydrathaltige Verbindungen mit α -Naphthol angewandt.

Pankreas gefunden. Die Speicherzellen enthalten reichlich Cerebroside, nur wenig Cholesterin und Lecithin. In einigen Fällen konnten auch geringe Mengen von Sphingomyelinen nachgewiesen werden. Das Nervensystem scheint bei den 6 Fällen nicht untersucht worden zu sein. UEDA stützt seine Diagnose allein auf das Vorkommen der Cerebroside in den speichernden reticulo-histiocytären Zellelementen und ordnet auch die von anderer Seite früher als NIEMANN-PICK'sche Erkrankung bezeichneten Fälle (Fall 1 und 6) als Gaucher ein. Unter Hinweis auf den Milzbefund unseres Niemann-Pick-Falles möchten wir vor dieser Alternative warnen. Für eine sichere Differentialdiagnose zwischen Niemann-Pick und Gaucher sind unbedingt die Befunde am ZNS und Leberparenchym heranzuziehen (beim Niemann-Pick geblähte Ganglienzellen und Sphingomyelinablagerungen im Leberparenchym).

Interessant sind die Präparate nach Alcianblaufärbung bzw. kombinierter Alcianblau-PAS-Reaktion. Die Speicherstoffe (Ganglioside, Sphingomyeline und Cerebroside) nehmen den Farbstoff nicht an, dafür kommt eine Substanz zur Darstellung, die besonders um die Ganglienzellen und Gefäße angereichert ist. Weit geringere Mengen liegen in den feinen Gewebslücken zwischen Nerven- und Gliafasern sowie zwischen den Markscheiden. Die Substanz ist metachromatisch, hat ihren relativen isoelektrischen Punkt bei p_H 1,7—2 und tritt nach Bleiacetatfixierung in der Alcianblaufärbung deutlicher in Erscheinung. Wir sehen in dieser Substanz, die sich wie ein saures Mucopolysaccharid verhält, die Grundsubstanz des ZNS. Diese Alcianblau-positiven Substanzen sind bei unserem Gargoylismus im Bereich der perivaskulären Mäntel und der verdickten Leptomeninge vermehrt anzutreffen. Sie erscheinen auch in den intercellulären Räumen um die erkrankten Ganglienzellen angehäuft. In den Ganglienzellen färbt sich das Protoplasma hellblau. Wir verweisen ausdrücklich auf diesen Befund, weil erst kürzlich DAWSON für den Gargoylismus in den Ganglienzellen die Speicherung eines Mucopolysaccharid-Cerebrosid- oder -Phosphatidkomplexes vermutet hat.

Aus den histochemischen Befunden leiten wir folgende Schlußfolgerungen ab:

Die einzelnen Formen der primären Lipoidosen (Am. Id., Gargoylismus, NIEMANN-PICK'sche und GAUCHER'sche Erkrankung) sind nicht genügend dadurch charakterisiert, daß man für jede Form die Ablagerung eines bestimmten chemischen Stoffes angibt, sondern in *jedem Fall* wird ein *Stoffgemisch* gebildet und in den Zellen abgelagert. *Die chemische Zusammensetzung dieses Stoffgemisches ist abhängig vom spezifischen Stoffwechsel der erkrankten Zellart.* Daraus ergibt sich zwangsläufig, daß für die Speicherungskrankheiten, die durch den Befall mehrerer Zellarten ausgezeichnet sind, nicht unbedingt in den verschiedenen Zellen chemisch

gleichartige Substanzen produziert werden. Beachtet man diese Gegebenheit, dann wird ohne weiteres verständlich, daß *beim Gargoylismus in den Ganglienzellen Ganglioside und Sphingomyeline, in den Zellen des Binde- und Stützgewebes wie ebenso gelegentlich in Leukocyten aber Mucopolysaccharide gespeichert werden*. Für die *Am. Id.* ergibt sich folgendes: In den Ganglienzellen kommen Ganglioside und Sphingomyeline zur Ablagerung. Nehmen die reticulo-histiocytären Zellen in Milz und Leber am Speicherungsprozeß teil, so enthalten diese Ganglioside und Cerebroside. Sphingomyeline konnten wir in unserem Fall 1, von dem nur kleine Mengen Organmaterial zur Verfügung standen, nicht nachweisen.

Bei der *NIEMANN-PICKschen Erkrankung* werden in den Ganglienzellen in erster Linie Sphingomyeline, in zweiter Linie Ganglioside gefunden. Die reticulo-histiocytären Zellen enthalten neben Sphingomyelinen auch Cerebroside und Ganglioside. Letztere offenbar in geringen Mengen. Die Leberparenchymzellen speichern dagegen Sphingomyeline allein. Bei der *GAUCHERSchen Erkrankung*, für die bisher eine sichere Speicherung nur in den reticulo-histiocytären Zellen nachgewiesen wurde, werden Cerebroside und Ganglioside, sowie gelegentlich geringe Mengen von Sphingomyelinen (UEDA) gefunden.

Zusammenfassung.

Es wurden 7 Fälle von Amaurotischer Idiotie (3 infantile, 2 spät-infantile und 1 juvenile Form), je ein Fall von Gargoylismus und *NIEMANN-PICKscher Erkrankung* sowie 1 Fall von *GAUCHERScher Erkrankung* (1 Erwachsenen-Gaucher) histochemisch untersucht. Den Lipoid-speicherungskrankheiten liegt eine primäre Zellstoffwechselstörung zugrunde, die in jedem Fall zur Ablagerung von *Substanzgemischen* in den betroffenen Fällen führt. *Die histochemische Verifizierung der Stoffgemische ergibt, daß die Zusammensetzung der pathologischen Stoffwechselprodukte vom spezifischen Zellstoffwechsel der erkrankten Zellen bestimmt wird.*

In allen Fällen von Amaurotischer Idiotie werden in den Ganglienzellen neben Gangliosiden Sphingomyeline gespeichert. Nehmen die reticulo-histiocytären Zellen in Milz und Leber am Speicherungsprozeß teil, so können sie Ganglioside und Cerebroside enthalten,.

Mit Speicherstoffen beladene Mikrogliazellen (Körnchenzellen), die gelegentlich bei der infantilen *Am. Id.* beobachtet werden, haben diese Stoffe (Ganglioside und Sphingomyeline) sekundär aus untergehenden Ganglienzellen aufgenommen. Die Ganglioside sind in der Mikroglia komplex umgebaut, schwerer extrahierbar und offenbar an Eiweißsubstanzen gebunden.

Beim *Gargoylismus* kommen in den Ganglienzellen ebenfalls *Ganglioside und Sphingomyeline* zur Ablagerung, während in dem Binde- und

Stützgewebe und gelegentlich in den Leukocyten *Mucopolysaccharide* gespeichert werden.

Die NIEMANN-PICKsche Erkrankung ist durch eine bevorzugte Speicherung von *Sphingomyelinen* ausgezeichnet, die in erster Linie in Nervenzellen und im Leberparenchym angetroffen werden. In den Nervenzellen können außerdem *Ganglioside* nachgewiesen werden. Die *reticulo-histiocytären Zellen* der Milz enthalten in unserem Fall (SMETANA) neben *Sphingomyelinen* *Cerebroside*, die *reticulo-histiocytären Zellen* der Leber *Cerebroside* sowie *Ganglioside*.

Für die GAUCHERSche Erkrankung ist ein isolierter Befall der *reticulo-histiocytären Zellen* (Milz, Leber, Lymphknoten, Knochenmark, gelegentlich auch andere Organe) charakteristisch. Neben den an Eiweiße gebundenen *Cerebrosid*en enthalten die erkrankten Zellen ein leicht lösliches *Glykolipoid*, das vermutlich aus *Gangliosiden* besteht.

Durch den Nachweis von *Gangliosiden* und *Sphingomyelinen* in den speichernden Nervenzellen bei Amaurotischer Idiotie und NIEMANN-PICKscher Erkrankung rücken die beiden Erkrankungen wieder näher aneinander. Es können lediglich quantitative Unterschiede festgestellt werden: innerhalb des abgelagerten Stoffgemisches überwiegen bei der Am.Id. die *Ganglioside*, bei der NIEMANN-PICKschen Erkrankung die *Sphingomyeline*. Trotz dieser quantitativen Unterschiede möchten wir die Am.Id. als eine der NIEMANN-PICKschen Erkrankung wesensverwandte Speicherungs Krankheit bezeichnen. Bei der Am.Id. werden gelegentlich geringgradige Speichervorgänge in Milz und Leber beobachtet, die mit denen bei Morbus Niemann-Pick unmittelbar vergleichbar sind. Das sicherste differentialdiagnostische Zeichen scheint uns die starke *Sphingomyelinablagerung* im Leberparenchym bei NIEMANN-PICKscher Erkrankung zu sein.

Auf die chemische Verwandtschaft der einzelnen Speicherstoffe untereinander (*Ganglioside*, *Sphingomyeline*, *Cerebroside*, *Mucopolysaccharide*) wird hingewiesen.

In der Chemie bekannte Proben auf Kohlenhydratverbindungen wurden für die Anwendung am Schnittpräparat abgewandelt und als brauchbare Methoden benutzt.

Literatur.

- BAGH, K. V., u. H. HORTLING: Blodfynd vid juvenil amaurotisk idioti. Nord. Med. **38**, 1072 (1948). — BEHRENS, M.: Zell- und Gewebetrennung. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden Abt. V, Teil 10, S. 1363. 1930. — BIRD, A.: The lipidosis and the central nervous system. Brain **71**, 434 (1948). — BIELSCHOWSKY, M.: Amaurotische Idiotie und lipoidzellige Splenohepatomegalie. J. Psychol. u. Neur. **36**, 103 (1928). — BOGAERT, L. VAN: Sur l'idiotie amaurotique familiale du type WARREN-TAY-SACHS. Encéphale **27**, 196 (1932). — BRANTE, G.: Gargoylismus als Lipoidose. Fette u. Seifen **53**, 457 (1951). — Gargoylism — a mucopolysaccharidosis. Scand. J. Clin. a. Labor. Invest. **4**, 43

(1952). — BROWN, N. J., B. D. CORNER and M. C. H. DODGSON: A second case in the same family of congenital familial cerebral lipidosis resembling amaurotic family Idiocy. *Arch. Dis. Childh.* **29**, 48 (1954). — BRÜCKNER, J.: Über Erkennung und Bestimmung verschiedener Hexosen nebeneinander. *Z. physiol. Chem.* **277**, 181 (1943). — COLE jr., H. N., R. C. IRVING, H. Z. LUND, R. D. MERCER and R. W. SCHNEIDER: Gargolysm with cutaneous manifestations. *Arch. of Dermat.* **66**, 371 (1952). — *Connectiv Tissues*: Transactions of the third conference. New York 1952. — CUMINGS, J. N.: The cerebral lipids in disseminated sclerosis and in amaurotic family idiocy. *Brain* **76**, 551 (1953). — DAUN, H.: Zur Kenntnis des FOLCHSchen Strandins. Diss. Köln 1951/52. — DAWSON, I. M. P.: The histology and histochemistry of gargolysm. *J. of Path.* **67**, 587 (1954). — DIEZEL, P. B.: Histochemischer Nachweis des Gangliosids in Ganglien- und Gliazellen bei Amaurotischer Idiotie und Isolierung der lipidspeichernden Zellen nach der Methode von M. BEHRENS. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **171**, 344 (1954). — DRIESSEN, O. A.: Über die Identität der Krankheit von TAY-SACHS mit der Krankheit von NIEMANN-PICK. *Mshr. Kindergeessk.* **21**, 242 (1953). — FEYRTER, F.: (1) Zur Frage der TAY-SACHS-SCHAFFERSchen amaurotischen Idiotie. *Virchows Arch.* **304**, 481 (1939). — (2) Über das Wesen der sog. Einschlußfärbung. *Wien. klin. Wschr.* **1946**, Nr 47. — GEDIGK, P.: Histochemische Darstellung von Kohlenhydraten. *Klin. Wschr.* **1952**, 1057. — HAGEN, L. O.: Lipid dystrophic changes in the central nervous system in dogs. *Acta path. scand. (Köbenh.)* **33**, 22 (1953). — HENDERSON, J. L., A. R. MACGREGOR, S. J. THANNHAUSER and R. HOLDEN: The pathology and biochemistry of Gargolysm, a report of three cases with a review of the literature. *Arch. Dis. Childh.* **27**, 230 (1952). — KLENK, E.: (1) Beiträge zur Chemie der Lipoidosen. NIEMANN-PICKSche Krankheit und amaurotische Idiotie. *Z. physiol. Chem.* **262**, 128 (1939). — (2) Beiträge zur Chemie der Lipoidosen. *Z. physiol. Chem.* **276**, 128 (1941). — (3) Über die Ganglioside, eine neue Gruppe von zuckerhaltigen Gehirnlipoiden. *Z. physiol. Chem.* **273**, 76 (1942). — (4) Über die Ganglioside des Gehirns bei der infantilen amaurotischen Idiotie vom Typ Tay-Sachs. *Ber. dtsch. chem. Ges.* **75**, 1632 (1942). — (5) Über die Verteilung der Neuraminsäure im Gehirn bei der familiären amaurotischen Idiotie und bei der NIEMANN-PICKSchen Krankheit. *Z. physiol. Chem.* **282**, 84 (1947). — (6) Zur Kenntnis der Ganglioside. *Z. physiol. Chem.* **288**, 216 (1951). — (7) Der chemische Aufbau der Nervenzelle und der Nervenfasern. 3. Kolloquium der Ges. für physiol. Chemie 1952 in Mosbach. — (8) Die Lipide im chemischen Aufbau des Nervensystems. *Naturwiss.* **40**, 449 (1953). — KLENK, E., u. H. LANGERBEINS: Mikromethode zur quantitativen Bestimmung der Ganglioside. *Z. physiol. Chem.* **270**, 185 (1941). — KLENK, E., u. K. LAUENSTEIN: (1) Über die zuckerhaltigen Lipide der Formbestandteile des menschlichen Blutes. *Z. physiol. Chem.* **288**, 220 (1952). — (2) Über die Glykolipide und Sphingomyeline des Stromas der Pferdeerythrocyten. *Z. physiol. Chem.* **295**, 164 (1953). — KLENK, E., u. F. RENNKAMP: (1) Der Zucker im Cerebrosid der Milz bei der Gaucher-Krankheit. *Z. physiol. Chem.* **272**, 280 (1942). — (2) Über die Ganglioside und Cerebroside der Rindermilz. *Z. physiol. Chem.* **273**, 253 (1942). — LAVES, W.: Über ein neues System der Leukocyten. *Münch. med. Wschr.* **1951**, 209. — LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Lipoidosen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* (31. Tagg) **1938**, 12. — LIEB, H.: Der Zucker im Cerebrosid der Milz bei der Gaucher-Krankheit. *Z. physiol. Chem.* **271**, 211 (1941). — LISON, L.: Alcian blue 8 G with chlorantine fast red 5 B. A technic for selective staining of mucopolysaccharides. *Stain Technol.* **29**, 131 (1954). — MAGEE, K. R.: Leptomeningeal changes associated with lipochondrodystrophy (gargolysm). *Arch. of Neur.* **63**, 282 (1950). — McMANUS, I. F. A., C. H. LUPTON jr. and L. S. GRAHAM: The demonstration of the intercapillary space of the human renal glomerulus. *Anat. Rec.* **110**, 57 (1951). — MENSCHIK, Z.: Nile Blue histochemical method for phospholipids. *Stain Technol.* **28**, 13 (1953). —

MONTREUIL, J., P. BOULANGER et E. HOUCKE: Chromatographie sur Papier des Constituants Glucidiques des Cérébrosides d'une Rate de Gaucher. *Bull. Sté. Chim. Biol.* **35**, 1125 (1953). — MORRISON, R. W., and M. H. HACK: histochemical studies in GAUCHER's Disease. *Amer. J. Path.* **25**, 597 (1949). — NAIDOO, D.: Gargoylism (HURLER's Disease): A neuropathological report. *J. Ment. Sci.* **99**, 74 (1953). — NISBET, N. W., and B. F. CUBIT: Gargoylism, report of a case. *Brit. J. Surg.* **41**, 404 (1954). — PEARSE, A. G. E.: Histochemistry, theoretical and applied. London 1953. — PETERS, G.: Stoffwechselstörungen und Zentralnervensystem. *Dtsch. Z. Nervenheilk.* **169**, 446 (1953). — RAYNER, S.: Juvenile Amaurotic Idiocy. *Acta genet. et statist. med. (Basel)* **3**, 1 (1952). — RENNKAMP, F.: Struktur der Sphingomyeline. *Z. physiol. Chem.* **284**, 215 (1949). — ROE, J. H., and E. W. RICE: A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissues. *J. of Biol. Chem.* **173**, 507 (1948). — SCHEIDEGGER, S.: Amaurotische Idiotie, ihre Stellung zu den Lipoidosen und die Beziehung zu der NIEMANN-PICK'schen Krankheit. *Schweiz. Z. Path. u. Bakter.* **4**, 27 (1941). — SMETANA, H.: Ein Fall von NIEMANN-PICK'scher Erkrankung. (Lipoidzellige Spleno-Hepatomegalie.) *Virchows Arch.* **274**, 697 (1930). — SMITH, E. B., TH. C. HEMPELMANN, S. MOORE and D. P. BARR: Gargoylism (Dysostosis multiplex): two adult cases with one autopsy. *Ann. Int. Med.* **36**, 652 (1952). — TERRY, R. D., W. M. SPERRY and B. BRODOFF: Adult lipidosis resembling NIEMANN-PICK's Disease. *Amer. J. Path.* **30**, 263 (1954). — TROPP, C., u. B. ECKHARDT: Gehirn-Sphingomyelin bei NIEMANN-PICK'scher Krankheit. *Z. physiol. Chem.* **245**, 163 (1937). — TUTTILL, C. R.: Juvenile Amaurotic Idiocy, marked adventitial growth associated with sceletal malformations and tuberculomas. *Arch. of Neur.* **32**, 198 (1934). — UEDA, M.: Histochemical studies of lipids. I. Histochemical examination of GAUCHER's Disease. *Hyogo J. Med. Sci.* **1**, 117 (1952). — ULLRICH, O., u. H. R. WIEDEMANN: Zur Frage der konstitutionellen Granulationsanomalien der Leukocyten in ihrer Beziehung zu enchondralen Dysostosen. *Klin. Wschr.* **1953**, 107. — UZMAN, L. L.: The lipoprotein of GAUCHER's Disease. *Arch. of Path.* **51**, 329 (1951). — Polycerebrosides in GAUCHER's Disease. *Arch. of Path.* **55**, 181 (1953). — WALZ, E.: Über das Vorkommen von Kerasin in der normalen Rindermilz. *Z. physiol. Chem.* **166**, 210 (1927). — WILDI, E.: Contribution à l'étude anatomo-pathologique et chimique de la maladie de TAY-SACHS. Thèse Nr 1978, Genève 1950. — WOLMAN, M.: Staining of lipids by the periodic-acid-Schiff Reaction. *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **75**, 583 (1950). — ZELLWEGER, H., L. GIACCAI and S. FIRZLI: Gargoylism and MORQUOS disease. *Amer. J. Dis. Childr.* **84**, 421 (1952).

Dr. PAUL BERND DIEZEL, Pathologisches Institut der Universität,
Heidelberg, Voßstraße 2.
